

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

REC'D 22 MAY 2006

WIBO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 34462P WO	WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/PEA/416	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001346	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 10.02.2005	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 11.02.2004
Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC INV. C12P5/00		
Anmelder MAXENS GMBH		
<p>1. Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p>3. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (an den Anmelder und das Internationale Büro gesandt) insgesamt 3 Blätter; dabei handelt es sich um</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Blätter mit der Beschreibung, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit Berichtigungen, denen die Behörde zugestimmt hat (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsvorschriften).</p> <p><input type="checkbox"/> Blätter, die frühere Blätter ersetzen, die aber aus den in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben), der/die ein Sequenzprotokoll und/oder die dazugehörigen Tabellen enthält/enthalten, nur in elektronischer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Abschnitt 802 der Verwaltungsvorschriften).</p>		
<p>4. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. I Grundlage des Berichts</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. II Priorität</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		
Datum der Einreichung des Antrags 01.08.2005	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 18.05.2006	
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt - Gitschiner Str. 103 D-10958 Berlin Tel. +49 30 25901 - 0 Fax: +49 30 25901 - 840	Bevollmächtigter Bediensteter Schönwasser, D Tel. +49 30 25901-318 	

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/001346

Feld Nr. I Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Sprache** beruht der Bescheid auf

- ☒ der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde.
- ☐ einer Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für folgenden Zweck eingereicht worden ist:
 - ☐ internationale Recherche (nach Regeln 12.3 a) und 23.1 b))
 - ☐ Veröffentlichung der internationalen Anmeldung (nach Regel 12.4 a))
 - ☐ internationale vorläufige Prüfung (nach Regeln 55.2 a) und/oder 55.3 a))

2. Hinsichtlich der **Bestandteile*** der internationalen Anmeldung beruht der Bericht auf *(Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt)*:

Beschreibung, Seiten

1-9 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-23 eingegangen am 30.11.2005 mit Schreiben vom 30.11.2005

☐ einem Sequenzprotokoll und/oder etwaigen dazugehörigen Tabellen - siehe Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll

3. ☐ Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung: Seite
- ☐ Ansprüche: Nr.
- ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
- ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
- ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

4. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der diesem Bericht beigelegten und nachstehend aufgelisteten Änderungen erstellt worden, da diese aus den im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).

- ☐ Beschreibung: Seite
- ☐ Ansprüche: Nr.
- ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
- ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
- ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

* Wenn Punkt 4 zutrifft, können einige oder alle dieser Blätter mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

Internationales Aktenzeichen:
PCT/EP2005/001346

Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-23
	Nein: Ansprüche -
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ja: Ansprüche -
	Nein: Ansprüche 1-23
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ja: Ansprüche: 1-23
	Nein: Ansprüche: -

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

RE Item V

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D2: ONKEN J ET AL: "Effects of R-(+)-limonene on submerged cultures of the terpene transforming basidiomycete *Pleurotus sapidus*" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 69, Nr. 2-3, 15. April 1999 (1999-04-15), Seiten 163-168, XP004168124 ISSN: 0168-1656
- D3: CROAN SUKI C: "Lyophilization of hypha-forming tropical wood-inhabiting Basidiomycotina" MYCOLOGIA, Bd. 92, Nr. 4, Juli 2000 (2000-07), Seiten 810-817, XP002336165 ISSN: 0027-5514
- D4: SUNDARI S KRISHNA ET AL: "Freeze-drying vegetative mycelium of *Laccaria fraterna* and its subsequent regeneration" BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES, Bd. 13, Nr. 7, Juli 1999 (1999-07), Seiten 491-495, XP002336166 ISSN: 0951-208X

Die Kommentare der Anmelderin bezüglich erfinderischer Tätigkeit des geltenden Anspruchssatzes (Schreiben vom 30.11.2005) wurden bei der Erstellung des vorliegenden vorläufigen Berichts in Erwägung gezogen.

1. Neuheit und erfinderische Tätigkeit (Art. 33(2)(3), PCT)

- 1.1** Die vorliegende Anmeldung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von aromaaktiven Terpenen aus Terpenkohlenwasserstoffen, wobei die Reaktion durch Mikroorganismen der Klassen Ascomycetes, Basidiomycetes oder Deuteromycetes katalysiert wird und die Mikroorganismen in Form eines lyophilisierten Mycels, welches rehydratisiert wird, zugesetzt werden.
- 1.2** Der Gegenstand der Ansprüche 1-23 wird als neu gegenüber dem zitierten Stand der Technik im Sinne von Art. 33(2), PCT, anerkannt.

- 1.3 D2 beschreibt die Herstellung des Terpens Carvon aus dem Terpenkohlenwasserstoff Limonen durch Biotransformation mit dem Basidiomyceten *Pleurotus sapidus* (Seite 165, Spalte 1, Abschnitt 4-Seite 166, Spalte 1, Zeile 3; Fig.1)

Aus D3 bzw. D4 geht hervor, dass Mycelien verschiedener Vertreter der Klasse Basidiomycetes zu Lagerungszwecken lyophilisiert werden können und nach ihrer Rehydratisierung mindestens so gut wie, teilweise sogar besser als Mycelien, die nicht lyophilisiert wurden, wachsen (D3: Seite 812, Spalte 1, Zeile 6-Spalte 2, Zeile 6; Seite 813, Spalte 2, Abschnitt 2 und 3; Tabelle 1; D4: Seite 492, Spalte 2, Abschnitt 2-Seite 493, Spalte 1, Abschnitt 1).

Ausgehend von Dokument D2, welches als nächster Stand der Technik betrachtet wird da es ebenfalls die Herstellung eines Terpens aus Terpenkohlenwasserstoff mit Hilfe eines Mikroorganismus betrifft, liegt der Unterschied zwischen D2 und dem erfindungsgemäßen Verfahren darin, dass erfindungsgemäß der Mikroorganismus in Form eines lyophilisierten Myceliums, welches rehydratisiert wurde, zugesetzt wird, während D2 von einer "Vorkultur" berichtet, deren Herstellung nicht erwähnt wird (Seite 164, Spalte 2, Abschnitte 1 und 2).

Ein vorteilhafter Effekt der Verwendung eines lyophilisierten Mycels im Gegensatz zu der Verwendung einer "Vorkultur" unbekannter Herstellungsweise ist den Anmeldeunterlagen nicht zu entnehmen. Da der Fachmann weiß, dass Pilzkulturen aus lyophilisiertem und rehydratisiertem Mycel herangezogen werden können (siehe z.B. D3 und D4) würde er diesen Schritt als übliche Alternative zu einer "Vorkultur" wie in D2 beschrieben, betrachten und somit ausgehend von D2 das erfindungsgemäße Verfahren anwenden, um ein Terpen aus Terpenkohlenwasserstoff mit Hilfe eines Mikroorganismus herzustellen.

Die Anmelderin argumentiert diesbezüglich in ihrem Schreiben vom 30.11.2005, dass die anmeldungsgemäße Verwendung eines lyophilisierten Myceliums gegenüber dem nächsten Stand der Technik (D2) den Vorteil habe, durch Perforation der Mycelmembranhülle einen schnelleren Austausch von Metaboliten sowie Produkten und Substraten zu ermöglichen. Dies führe zu einer reduzierten bzw. gänzlich vermiedenen Hemmung der Biotransformation, d.h. zu einer Aktivierung der Biotransformation, im Gegensatz zu dem im nächstliegenden Stand der Technik

beschriebenen Verfahren.

Die Anmeldeunterlagen weisen jedoch keine Daten auf, die einen solchen vorteilhaften Effekt der Anmeldung gegenüber dem Stand der Technik glaubhaft demonstrieren. In Abwesenheit eines entsprechenden Nachweises stellen die Angaben der Anmelderin nicht mehr als eine Behauptung des oben beschriebenen vorteilhaften Effekts dar. Eine derartige Behauptung kann jedoch nicht als Basis für die Anerkennung einer erfinderischen Tätigkeit betrachtet werden. Da ebenfalls nicht ersichtlich ist, dass der Gegenstand einer der Unteransprüche geeignet wäre eine erfinderische Tätigkeit zu begründen, erfüllt der Gegenstand der Ansprüche 1-23 bis zum Nachweis des oben beschriebenen, angeblichen, vorteilhaften Effekts nicht die Erfordernisse des Art. 33(3), PCT.

Zu Punkt VI

Bestimmte angeführte Unterlagen

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen

Patent Nr.	WO02053151
Veröffentlichungsdatum	11-07-2002 (Tag/Monat/Jahr)
Anmeldedatum	26-03-2002 (Tag/Monat/Jahr)
Prioritätsdatum	08-08-2001 (Tag/Monat/Jahr)

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von aromaaktiven Terpenen aus Terpenkohlenwasserstoffen mittels einer selektiven Biotransformation und mit Hilfe von Mikroorganismen der Klassen Ascomycetes, Basidiomycetes und Deuteromycetes, dadurch gekennzeichnet, dass ein lyophilisiertes Mycel eingesetzt wird, das zuerst rehydratisiert und dann mit dem Substrat versetzt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mycel-Zellen zusätzlich durch Ultraschallbehandlung und/oder Extrusion permeiert werden.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation in submerser Kultur vorgenommen wird.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation enantio-, stereo- und/oder regioselektiv durchgeführt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass als Mikroorganismen Vertreter von *Fusarium*, *Pleurotus*, *Penicillium* und *Chaetomium* eingesetzt werden.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass als Mikroorganismen *Fusarium proliferatus*, *Pleurotus sapidus*, *Penicillium citrinum* und *Chaetomium globosum* eingesetzt werden.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Terpenkohlenwasserstoffe Mono- und Sesquiterpene verwendet werden.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass als Terpenkohlenwasserstoffe Limonen, Pinen, Valencen, Farnesen, Thymol und Dimethylallylalkohol verwendet werden.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass als Terpenkohlenwasserstoffe R-(+)-Limonen oder S-(-)-Limonen verwendet werden.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass im lyophilisierten Mycel vor der Biotransformation durch Zugabe von Substrat eine Enzyminduktion durchgeführt wird.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation in einem zweiphasigen System durchgeführt wird.
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation in einem zweiphasigen System ohne Co-Solventien durchgeführt wird.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation in einem Medium mit einer verringerten Menge M an Kohlenstoffquelle durchgeführt wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die verringerte Menge M an Kohlenstoffquelle $M < 50 \text{ gL}^{-1}$ ist.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktion in einem Rührkessel-, Oberflächen- oder Festbettreaktor durchgeführt wird.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass als aromaaktive Terpene terpenoide Alkohole, Epoxide, Aldehyde, Ketone, Mehrfach-Alkohole, Carbonyle und Carbonylalkohole erhalten werden.
17. Verfahren nach Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass Piperiton, Isopiperiton, Isopiperitenol, Isopiperitenon, Perillaaldehyd, Carvon, Carveol, Linalool, Linalooloxid, Terpeneol sowie Nootkatol und Nootkaton erhalten werden.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Transformationsprodukte aus zellulären Kompartimenten oder Fraktionen isoliert werden.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass zuerst enantioselektiv R-(+)-Limonen zu cis-(+)-Carveol und S-(-)-Limonen zum trans-(-)-Carveol biotransformiert wird und anschließend trans-(-)-Carveol zu R-(-)-Carvon.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die enantioselektive Biotransformierung von R-(+)-Limonen zu cis-(+)-Carvol mit *Fusarium spec.* als Biokatalysator durchgeführt wird.
21. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die enantioselektive Umwandlung von trans-(-)-Carveol zu R-(-)-Carveol mit *Pleurotus spec.* als Biokatalysator durchgeführt wird.
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass bicyclische Sesquiterpene zu β -Nootkatol und anschließend zu Nootkaton transformiert werden.
23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Transformierung bicyclischer Sesquiterpene zu β -Nootkatol und anschließend zu Nootkaton mit *Chaetomium spec.* durchgeführt wird.